



УДК 616.151.5 – 056. 7-07:618.3: 575.2

Abstract

*Kmyta V. V. *,
Sumy State University,
2 Rymkogo-Korsakova St., Sumy,
40007, Ukraine*

**CONNECTION OF BCL1 POLYMORPHISM OF
GLUCOCORTICOID RECEPTOR GENE WITH SEVERITY
OF COURSE AND OBESITY PATIENTS WITH BRONCHIAL
ASTHMA**

The purpose of our investigation was study the connection between Bcl1 polymorphism of glucocorticoids receptor gene (GR) with severity of course of disease and obesity patients with bronchial asthma (BA).

188 patients with BA and 95 almost healthy patients were examined. Body mass index, the pulmonary function test (PFT) were investigated. Determination of Bcl1 polymorphism of 2d glucocorticoids receptor exon gene (GR) performed with Fleury I. et al. method with modifications. Statistically results processing were done with using of the SPSS-17 programs.

The results of analyses of the genotype distribution by Bcl1 polymorphism GR gene depending on severity of BA course showed that C/C genotype associated with easy course of disease, meanwhile, G/G with severe course. The analyzes of distributing allelic variations GR depending on forced expiratory volume in 1 second (FEV₁) showed more expressed obstructive changes in minor allele carries (C/G+G/G) comparing with homozygotes by main allele. We pointed out that patients with BA with C/C genotype index FEV₁ showed 68.6 (95% CI 64.9–73.3), and with G/G genotype – 59.9(95% CI 57.02–62.7).

The analysis of genotype distribution by Bcl1 polymorphism GR gene depending on the level FEV₁ with consideration BMI showed that genotype C/C mostly occurred in patients with normal body mass and FEV₁ in normal limits and in range of 60–80 % from appropriate values, and genotype G/G – in patients with obesity and severe disorders FEV₁.

Obtained results proved the availability of connection between genotypes by Bcl1 polymorphism GR gene, BMI and degree of disorder PFT in patients with BA.

Key words: bronchial asthma, Bcl1 polymorphism, body mass index, the degree of severity.

Corresponding author: * Vlady_dytko@ukr.net

Резюме

*Кмита В. В. *,
Сумський державний
університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна*

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК BCL1-ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА
ГЛЮКОКОРТИКОЇДНОГО РЕЦЕПТОРА ІЗ ТЯЖКІСТЮ
ПЕРЕБІГУ ТА ОЖИРІННЯМ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ
АСТМУ (ОРИГІНАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

Метою нашого дослідження було вивчення взаємозв'язку між Bcl1-поліморфізмом гена глюकोкортикоїдного рецептора (ГР) із тяжкістю клінічного перебігу та наявністю ожиріння у хворих на бронхіальну астму (БА).

Обстежено 188 пацієнтів із БА та 95 практично здорових осіб. Досліджено індекс маси тіла (ІМТ), функцію зовнішнього дихання. Визначення Bcl1-поліморфізму 2-го екзона гена ГР проводили за методом Fleury I. et al. із модифікаціями. Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми SPSS-17.

Результати аналізу розподілу генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР залежно від тяжкості перебігу БА показали, що С/С-генотип асоційований із легким перебігом захворювання, а G/G – із тяжким. Аналіз розподілу алельних варіантів гена ГР залежно від ОФВ₁ свідчить про більш виражені обструктивні зміни у носіїв мінорного алеля (C/G+G/G) порівняно із гомозиготами за основним алелем. Установлено, що у хворих на БА із С/С-генотипом показник ОФВ₁ становив 68,6 (95% ДІ 64,9-72,3), а із G/G-генотипом – 59,9 (95% ДІ 57,02-62,7).

Проведений аналіз розподілу генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР залежно від рівня ОФВ₁ із врахуванням ІМТ показав, що генотип С/С найчастіше був у хворих із нормальною масою тіла та ОФВ₁ у межах норми та в діапазоні 60–80 % від належних величин, а генотип G/G – у хворих із ожирінням та вираженими порушеннями ОФВ₁.

Отримані результати доводять наявність взаємозв'язку між генотипами за Bcl1-поліморфізмом гена ГР, ІМТ та ступенем порушення ФЗД у хворих на БА.

Ключові слова: бронхіальна астма, Bcl1-поліморфізм, індекс маси тіла, ступінь тяжкості.

Резюме

Кмита В. В. *,
Сумський державний
університет,
ул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна

ВЗАИМОСВЯЗЬ ВСЛ1-ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА С ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ И ОЖИРЕНИЕМ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Целью нашего исследования было изучение взаимосвязи между Bcl1-полиморфизмом гена глюкокортикоидного рецептора (ГР) с тяжестью клинического течения и наличием ожирения у больных бронхиальной астмой (БА).

Обследовано 188 пациентов с БА и 95 практически здоровых лиц. Исследовано индекс массы тела (ИМТ), функцию внешнего дыхания (ФВД). Определение Bcl1-полиморфизма 2-го экзона гена ГР проводили по методу Fleury I. et al. с модификациями, а статистическую обработку – с использованием программы SPSS-17.

Результаты анализа распределения генотипов по Bcl1-полиморфизмом гена ГР в зависимости от тяжести течения БА показали, что С/С-генотип ассоциирован с легким течением заболевания, а G/G – с тяжелым. Анализ распределения аллельных вариантов гена ГР в зависимости от ОФВ₁ свидетельствует о более выраженных обструктивных изменениях у носителей мінорного аллеля (C/G + G/G) по сравнению с гомозиготами по основному аллелю. Установлено, что у больных БА с С/С-генотипом показатель ОФВ₁ становил 68,6 (95% ДИ 64,9-72,3), а с G/G-генотипом – 59,9 (95% ДИ 57,02-62,7).

Проведенный анализ распределения генотипов по Bcl1-полиморфизмом гена ГР в зависимости от уровня ОФВ₁ с учетом ИМТ показал, что генотип С/С чаще был у больных с нормальной массой тела и ОФВ₁ в пределах нормы и в диапазоне 60–80 % от должных величин, а генотип G/G – у больных с ожирением и выраженными нарушениями ОФВ₁. Полученные результаты доказывают наличие взаимосвязи между генотипами по Bcl1-полиморфизмам гена ГР, ИМТ и степенью нарушения ФВД у больных БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, Bcl1-полиморфизм, индекс массы тела, степень тяжести.

Автор, відповідальний за листування: * Vlady_dytko@ukr.net

Вступ

Згідно із сучасними даними поширеність БА становить від 3 до 15 %, причому в економічно розвинених країнах кількість хворих із цим діагнозом зросло більше, ніж утрічі [1]. Поряд із цим спостерігається і прогресуючий ріст кількості осіб із зайвою масою тіла різною мірою виражених [2]. У світі кількість дорослих із клінічно встановленим ожирінням становить 300 мільйонів. Ожиріння є доведеним багатьма дослідженнями фактором ризику розвитку БА [3–5] та погіршення її контролю [6–8]. Механізми даного зв'язку включають зниження фізичної активності, гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу, механічні обмеження обсягу дихальних рухів, системне запалення, що індуковане медіаторами жирової клітковини; метаболічні розлади та генетичні чинники [9–11].

БА і ожиріння є мультифакторіальними захворюваннями, на які впливають як генетичні фактори, так і фактори довкілля [1]. Існує думка, що спільні генетичні чинники цих двох патологій можуть частково пояснити дані епідеміологічних досліджень, які підтверджують часту асоціацію БА та ожиріння. У декількох генів була виявлена асоціація з ожирінням та БА [9]. Hallstrand T. S. et al. (2005), провівши дослідження з вивчення генетичної плейотропії та її зв'язків із БА та ожирінням, установили, що спадковий характер БА спостерігався в 53 % випадків, а ожиріння – у 77 % випадків [9]. Таким чином, як показують результати досліджень, і БА, і ожиріння є генетично детермінованими захворюваннями.

Ожиріння призводить до обтяження клінічного перебігу БА і утруднення контролю захворювання, негативно впливає на клінічний перебіг БА, причому маса тіла пов'язана із

симптомами БА дозозалежним чином [3, 4]. Установлено лінійне відношення ($r = 0,40$; $p = 0,0001$) між ступенем тяжкості БА та індексом маси тіла (ІМТ) [10]. Так, наявність хрипів і їх поширеність ($p < 0,001$), нічний кашель ($p < 0,001$), хрипи, індуковані фізичним навантаженням ($p = 0,009$), мали статистично вірогідний зв'язок із ожирінням [5].

Таким чином, ожиріння сприяє не лише виникненню БА, а й здатне обтяжувати її перебіг – призводити до окремого фенотипу захворювання, зниження ефективності лікування, хоча асоційовані патогенетичні механізми при БА та ожирінні потребують поглиблених подальших досліджень. Ця проблема опинилася на стику трьох напрямків наукового пошуку: вивчення метаболічної патології, проявом якої є ожиріння; подальшого розроблення концепції БА та ожиріння, як хронічних захворювань, що супроводжуються персистувальним запаленням низької інтенсивності, а також пошуку їх спільних генетичних детермінант. Зважаючи на дані літератури щодо ролі Bcl1-поліморфізму гена ГР у виникненні БА [13], ожиріння [14], а також щодо негативного впливу ожиріння на перебіг БА, метою нашого дослідження було вивчення взаємозв'язку між однонуклеотидним Bcl1-поліморфізмом гена ГР із тяжкістю клінічного перебігу та наявністю ожиріння у хворих на БА.

Матеріали і методи

Обстежено 188 пацієнтів з БА. Контрольну групу становили 95 практично здорових осіб дорослого віку, які не мали в анамнезі БА і симптомів інших алергічних захворювань у себе і близьких родичів. Визначали ІМТ, який оцінювали згідно із рекомендаціями ВООЗ. Дослідження функції зовнішнього дихання

(ФЗД) проводили за допомогою діагностичного комплексу «Кардіоплюс» (Україна).

Венозну кров у хворих на БА і здорових осіб набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянту («Sarstedt», Німеччина). ДНК виділяли з лейкоцитів цільної крові із використанням наборів D1AtomDNAPrep 100 («Isogene», Росія). Визначення алельного поліморфізму 2-го екзона гена ГР Bcl1 (C647G; rs41423247) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з подільшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів за Fleury I. et al. із модифікаціями (2003). Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми SPSS-17.

Результати

Розподіл генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР залежно від тяжкості перебігу БА подано в табл. 1.

Аналіз розподілу генотипів за даним поліморфізмом у хворих на БА залежно від ступеня тяжкості показав достовірну різницю за χ^2 -критерієм Пірсона ($p = 0,003$). Установлено, що за наявності легкого перебігу БА майже у половини пацієнтів був С/С-генотип. З іншого боку, серед пацієнтів із БА, які мали генотип С/С, у 30,2 % був легкий перебіг, у 51,2 % – перебіг середньої тяжкості та лише у 18,6 % – тяжкий перебіг захворювання. С/Г-генотип був у 10; 57,5 та 32,5 %, а Г/Г-генотип – у 9,2; 46,2 та 44,6 % хворих відповідно. За наявності тяжкого перебігу БА найчастіше траплявся Г/Г-генотип. Таким чином, С/С-генотип був асоційований із легким перебігом захворювання, а Г/Г – із тяжким перебігом.

Результати оцінки взаємозв'язку генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР та показника об'єму форсованого видиху за 1-шу секунду (ОФВ₁) наведено у табл. 2.

Отримані результати аналізу розподілу генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР свідчать про більш виражені зміни порушення ОФВ₁ у носіїв мінорного алеля (С/Г+Г/Г) порівняно із гомозиготами за основним алелем. Так, ОФВ₁ на рівні 80 % був у 77,8 % хворих із генотипом С/С та у 22,2 % із генотипом Г/Г. Зниження ОФВ₁ у межах 60–80 % та нижче 60 % до належних величин частіше виявлялось у носіїв алеля Г (С/Г+Г/Г). Під час аналізу розподілу генотипів за даним поліморфізмом установлено вірогідну відмінність між

показниками ОФВ₁ за χ^2 -критерієм Пірсона ($p = 0,001$).

Результати дослідження ОФВ₁ залежно від алельних варіантів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР подані в табл. 3.

Установлено, що у хворих на БА із С/С-генотипом показник ОФВ₁ був найвищим – 68,6 (95 % ДІ 64,9–72,3), а у хворих із Г/Г-генотипом вірогідно нижчим – 59,9 (95 % ДІ 57,02–62,7).

Зважаючи на те що підвищений ІМТ є обтяжливим фактором перебігу БА [6, 10] та асоціацію між Г/Г-генотипом та ожирінням [13], ми провели аналіз розподілу генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР залежно від рівня ОФВ₁ із врахуванням ІМТ (табл. 4).

Як бачимо з табл. 4, за наявності ОФВ₁ у межах норми та НМТ у всіх хворих був С/С-генотип, за наявності ЗМТ – у всіх Г/Г-генотип, а при ожирінні – у 50 % С/С-генотип та у 50 % – Г/Г-генотип. При зниженні ОФВ₁ у межах 60–80 % установлено вірогідну відмінність за χ^2 критерієм Пірсона у розподілі генотипів за даним поліморфізмом залежно від ІМТ ($p = 0,001$). За наявності НМТ розподіл генотипів С/С, С/Г, Г/Г був таким: 26,9; 58,2; 14,9 %, при ЗМТ – 29,4; 41,2; 29,4 %, а за наявності ожиріння – 15,6; 25; 59,4 % відповідно. Таким чином, генотип С/С найчастіше був у хворих із НМТ та ОФВ₁ в межах норми та 60–80 % від належних величин, а генотип Г/Г – у хворих із ожирінням та вираженими порушеннями ОФВ₁.

При значенні показника ОФВ₁ нижчому 60 % від належних величин установлено вірогідну відмінність у розподілі генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР залежно від ІМТ ($p = 0,001$). Так, встановлено, що лише у 10,3 % пацієнтів за наявності ІМТ у межах норми був генотип Г/Г, а за наявності ЗМТ цей показник становив 17,2 %, ожиріння – 72,4 %. Розподіл генотипів С/С, С/Г, Г/Г за даним поліморфізмом за НМТ становив: 13,6; 72,7; 13,6 %, ЗМТ – 36,4; 18,2; 45,5 %, а ожиріння – 3,3; 26,7; 70 % відповідно.

Отримані результати доводять наявність взаємозв'язку між генотипами за Bcl1-поліморфізмом гена ГР, ІМТ та ступенем порушення ФЗД у хворих на БА.

Таблиця 1

Частота генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена глюкокортикоїдного рецептора залежно від тяжкості перебігу бронхіальної астми

Ступінь тяжкості	Генотипи					
	C/C		C/G		G/G	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Легкий	13	48,1	8	29,6	6	22,2
Середній	22	22,4	46	46,9	30	30,6
Тяжкий	8	12,7	26	41,3	29	46

$\chi^2 = 15,96$; $p = 0,003$

Таблиця 2

Частота генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена глюкокортикоїдного рецептора залежно від показника ОФВ₁

ОФВ ₁ , %	Генотипи					
	C/C		C/G		G/G	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
80	7	77,8	0	0	2	22,2
60–80	28	24,1	54	46,6	34	29,3
< 60	8	12,7	26	41,3	29	46

$\chi^2 = 22,8$; $p = 0,001$

Таблиця 3

Об'єм форсованого видиху за 1-шу секунду залежно від генотипу за Bcl1-поліморфізмом гена глюкокортикоїдного рецептора

Генотипи	ОФВ ₁ , %			
	М	М	95 % ДІ	
			Нижня межа	Верхня межа
C/C	68,6	1,84	64,9	72,3
C/G	64,5	0,87	62,8	66,3
G/G	59,9	1,42	57,02	62,7

$\chi^2 = 22,8$; $p = 0,001$

Таблиця 4

Розподіл генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена глюкокортикоїдного рецептора у хворих на бронхіальну астму залежно від індексу маси тіла та об'єму форсованого видиху за 1-шу секунду

Об'єм форсованого видиху за 1-шу секунду в нормі						
Генотипи	Індекс маси тіла					
	≤ 24,9		25–29,9		30 ≤	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
C/C	6	85,7	0	0	1	14,3
G/G	0	0	1	50	1	50
$\chi^2 = 6,1$; $p = 0,047$						
Об'єм форсованого видиху за 1-шу секунду 60–80 % від належних						
Генотипи	Індекс маси тіла					
	≤ 24,9		25–29,9		30 ≤	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
C/C	18	64,3	5	17,9	5	17,9
C/G	39	72,2	7	13	8	14,8
G/G	10	29,4	5	14,7	19	55,9
$\chi^2 = 21,2$; $p = 0,001$						
Об'єм форсованого видиху за 1-шу секунду < 60 % від належних						
Генотипи	Індекс маси тіла					
	≤ 24,9		25–29,9		30 ≤	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
C/C	3	37,5	4	50	1	12,5
C/G	16	61,5	2	7,7	8	30,8
G/G	3	10,3	5	17,2	21	72,4
$\chi^2 = 23,9$; $p = 0,001$						

Обговорення

Зважаючи на те що загальні генетичні фактори БА та ожиріння можуть частково пояснити дані епідеміологічних досліджень, що підтверджують часту асоціацію БА та ожиріння, а також те, що у декількох генів був виявлений зв'язок з ожирінням та БА [9, 12], ми дослідили взаємозв'язок між Bcl1-поліморфізмом гена ГР із тяжкістю клінічного перебігу та ФЗД у хворих на БА із НМТ та ожирінням. Попередньо встановлено зв'язок цього поліморфізму із розвитком вісцерального типу ожиріння [13], а також в окремих дослідженнях – із

виникненням БА [14]. Доведено асоціацію декількох генів із ожирінням та БА [9, 12], що свідчить про спільну генетичну схильність до обох станів.

Наші дані доповнюють отримані результати у хворих на БА із ожирінням, що доводять вищий ризик тяжкого перебігу захворювання. Результати нашого дослідження показали, що генотипи за Bcl1-поліморфізмом гена ГР мають вірогідний зв'язок із тяжкістю перебігу БА та ступенем порушення ФЗД. Установлено асоціацію G/G-генотипу за досліджуваним поліморфізмом із ожирінням у пацієнтів із БА

та із тяжкими обструктивними порушеннями, а C/C – із НМТ та легким перебігом.

Це може бути поясненням не лише високої частоти асоціації БА та ожиріння, а й більш тяжкого перебігу БА асоційованої із ожирінням. Установлена чітка асоціація G/G-генотипу за Bcl1-поліморфізмом гена ГР із виникненням БА, ожирінням, тяжкістю її перебігу та порушенням ФЗД доводить частково один із механізмів спільного генетичного походження даних захворювань та підтверджує плейотропність ефектів даного поліморфізму.

Висновки

1. Установлено статистично вірогідну різницю у розподілі генотипів за Bcl1-поліморфізмом гена ГР у хворих на БА залежно від ступеня тяжкості. C/C-генотип був асоційований із легким перебігом захворювання, а G/G – із тяжким.
2. Установлено більш виражені порушення ОФВ1 у носіїв мінорного алеля (C/G+G/G) порівняно із гомозиготами за основним алелем C/C.
3. Доведено наявність взаємозв'язку між генотипом за Bcl1-поліморфізмом гена ГР, ІМТ та ступенем порушень ФЗД у хворих на БА. G/G-генотип асоційований із тяжким перебігом та із ожирінням у хворих на БА, що свідчить про його плейотропний вплив на ці захворювання.

References (список літератури)

1. Belevskii AS. *Globalnaya strategiya lecheniya i profilaktiki bronkhialnoi astmy (peresmotr 2011 g.)* [Global strategy for the treatment and prevention of bronchial asthma (Review 2011)]. Moscow: Rossiiskoe respiratornoe obshchestvo Publ., 2012. 108 p.
2. Lenzer J. Obesity related illness consumes a sixth of US health care budget. *BMJ*. 2010;341:c6014.
3. Boulet LP. Asthma and obesity. *Clin Exp Allergy*. 2013 Jan;43(1):8–21.
4. Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(5):897–909.
5. Kajbaf TZ, Asar S, Alipoor MR. Relationship between obesity and asthma symptoms among children in Ahvaz, Iran: a crosssectional study.

Italian Journal of Pediatrics. 2011;37:1.

6. Saint-Pierre P, Bourdin A, Chanez P, Daures JP, Godard P. Are overweight asthmatics more difficult to control? *Allergy*. 2006;61(1):79–84.
7. Peters-Golden M, Swern A, Bird SS, Hustad CM, Grant E, Edelman JM. Influence of body mass index on the response to asthma controller agents. *Eur Respir J*. 2006;27(3):495–503.
8. Sutherland ER, Goleva E, Strand M, Beutner DA, Leung DY. Body mass and glucocorticoid response in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(7):682–7.
9. Hallstrand TS, Fischer ME, Wurfel MM, Afari N, Buchwald D, Goldberg J. Genetic pleiotropy between asthma and obesity in a community-based sample of twins. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(6):1235–41.
10. Akerman MJH, Calacanis CM, Madsen MK. Relationship between asthma severity and obesity. *J Asthma*. 2004;41(5):521–526.
11. Mosen DM, Schatz M, Magid DJ, Camargo CA Jr. The relationship between obesity and asthma severity and control in adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(3):507–11.e6.
12. Tantisira K, Weiss S. The pharmacogenetics of asthma treatment. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2009;9(1):10–17.
13. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, Uitterlinden AG, Arp P, Ester W, Janssen JA, et al. Identification of the Bcl1 polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59(5):585–92.
14. Pietras T, Panek M, Tworek D, Oszejka K, Wujcik R, Gorski P, Kuna P, Szymraj J. The Bcl1 single nucleotide polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene h-GR/NR3C1 promoter in patients with bronchial asthma: pilot study. *Mol Biol Rep*. 2011;38(6):3953–3958.

(received 28.08.2014, published online 16.10.2014)

(отримано 28.08.2014, опубліковано 16.10.2014)